



TITLE:

B-23 マカク歯髄幹細胞を用いた歯髄再生療法の確立

AUTHOR(S):

筒井, 健夫

CITATION:

筒井, 健夫. B-23 マカク歯髄幹細胞を用いた歯髄再生療法の確立. 霊長類研究所年報 2013, 43: 98-99

ISSUE DATE:

2013-11-13

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/179884>

RIGHT:

簡便・安価なニホンザルの個体群モニタリング手法の開発を目的に、本種が発する「音声」を群れ密度の間接指標として利用するための予備実験を試みた。本研究では、地形・植生・環境雑音の多寡が異なる(1)スギ・ヒノキが優占する平地林、(2)コナラ林が優占する傾斜地、(3)スギ人工林が優占する平坦地、(4)ブナ林が優占する傾斜地、(5)ブナが優占する平地林、を調査区として指定し、音源(すなわちニホンザルの個体)からの距離に応じた無人音声記録装置による本種の音声記録成功率を評価した。主な手順として、上記5つの調査区に音声記録装置を設置し、音源から10m間隔(最大200m)で、あらかじめ録音したニホンザルの音声(クーコール、ディストレスコール、威嚇声)をスピーカーから発生させた。その結果、地形・植生・環境雑音・音声種によって音声記録成功率に差があることは明らかとなったが、どの調査区でも100m程度までは音声記録に成功した。このことから、他の間接指標(例えば足跡・糞・カメラトラップ)よりも、音声はより広範囲を簡便にカバーできる指標となりうる可能性がある。

B-20 現代型オナガザル上科の起源に関する研究

國松豊(京都大・院・理) 所内対応者：平崎鋭矢

現在、日本・ケニア合同調査隊が、東アフリカのケニア共和国北部、東部大地溝帯の東の縁に位置するナカリ地域で、中新世後期初頭の化石を産出するナカリ累層を対象にして古生物学的野外発掘調査をおこなっている。この調査により、これまでに多数の脊椎動物化石や植物化石が採集された。霊長類としては、アフリカ大型類人猿と人類の共通祖先が生息していたと推測される時代から見つかった数少ない類人猿化石のひとつ、*Nakalipithecus nakayamai*をはじめとして、他にも原始的な大型類人猿や複数の小型「類人猿」、コロボス類を主とした複数種の旧世界ザル化石を発見した。ナカリから産出したコロボス類などは、現代型オナガザル上科としては、知られているなかではほぼ最古と言ってよいものであり、旧世界ザルの進化研究において、きわめて興味深い資料である。これらの霊長類化石、特に旧世界ザル化石の解析のため、本共同利用研究では、霊長類研究所所蔵の現生種骨格標本から歯牙や頭骨の比較データを収集することを目的とし、本年度は主にコロボス亜科とオナガザル族の歯牙・頭骨の計測及び写真撮影をおこなった。

B-21 ニホンザルのアメーバ感染に関する疫学研究

橘裕司(東海大・医)、小林正規(慶応大・医)、柳哲雄(長崎大・熱研) 所内対応者：岡本宗裕

最近、赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)と形態的には鑑別できない新種のアメーバ(*E. nuttalli*)がサル類から見つかっている。本研究の目的は、ニホンザルにおける腸管寄生アメーバの感染実態を明らかにすることである。今年度は兵庫県洲本市(淡路島)において、野生ニホンザルの糞便50検体を採取した。直接鏡検では、*Entamoeba* 属の他、ヨードアメーバ、小形アメーバ、ブラストシスチス、鞭虫卵、糞線虫卵が観察された。糞便からDNAを抽出し、赤痢アメーバ、*E. dispar*、*E. nuttalli*、*E. chattoni*、大腸アメーバ(*E. coli*)、*E. moshkovskii*について、PCR法による検出を試みた。その結果、*E. chattoni* が全検体において陽性であり、大腸アメーバが54%の検体において陽性であった。しかし、その他の4種の*Entamoeba* は全く検出されなかった。また、*E. chattoni* について株分離を試みたが、このアメーバ種の培養は困難であり、分離株を得ることはできなかった。これまでの他地域における調査でも、*E. chattoni* 感染は高率に認められ、赤痢アメーバは検出されていない。一方で、*E. dispar*、*E. nuttalli*、大腸アメーバの感染の有無については地域差のあることが、今回の調査においても確認された。

B-22 ニホンザル群における食物摂取と栄養状態および繁殖成績について幸島群と高崎山群の比較

栗田博之(大分市教育委員会・文化財課) 所内対応者：濱田穰

幸島での写真計測による体長計測は、例年通り8月に成熟メス12個体について行った。高崎山成熟メスでは、加齢による体長の短縮は認められないが、幸島群ではまだ調査年数が少なく、年齢変化の傾向を明らかにするには至っていない。

また、サルの重要な自然食物であるアラカシ・マテバシイ・ウラジロガシの堅果生産量を調査するためのシードトラップを8月に幸島内の4箇所に設置した。12月までの間、1ヶ月に一度、貯まった堅果を回収し、結果としてアラカシの堅果33個とウラジロガシの堅果36個を確認した。なお、高崎山に設置した5箇所のシードトラップからは165個の堅果を回収し、すべてがコナラであった。幸島・高崎山の両地域とも、サルなどの動物が貯まった堅果を強奪したり、トラップを破壊したりするのを防ぐ工夫を行った結果、概ねその目的は達成できた。

また、2011年度より幸島群において餌獲得量の調査を開始したが、2012年度も台風接近などにより2日間しか調査ができなかった。高順位メスと低順位メス各1頭ずつの餌(コムギ)獲得量調査を行い、2ヵ年でまだ4個体のデータに留まっているが、高崎山個体に比べると、獲得量の順位による差は高崎山群に比べると幸島群の方が小さい傾向が示されつつある。

今後、幸島群と高崎山群の間での餌獲得量・体サイズ・繁殖成績についての調査を継続し、それぞれの実態をより詳細に解明してゆきたい。

B-23 マカク歯髄幹細胞を用いた歯髄再生療法の確立

筒井健夫(日本歯科大・薬理学講座) 所内対応者：鈴木樹理

平成24年度は、アカゲザル2例(4歳)とニホンザル1例(7ヶ月)から永久歯歯髄細胞および乳歯歯髄細胞を採取

し初代培養を行った。混合歯列期のアカゲザルの2例においては、乳臼歯歯髄細胞、永久歯歯髄細胞、埋伏歯歯髄細胞の初代培養から継代培養を行い、免疫不全マウスへの皮下移植を行った。皮下移植を行ったこれらの歯髄細胞において、H-E染色像より歯髄様組織形成や象牙質様形成物、また硬組織様形成物が観察された。また、免疫染色より象牙質および硬組織タンパクである bone sialoprotein 陽性像が観察された。さらに乳歯歯髄細胞においては、継代数が78となり継代培養を継続している。この乳歯歯髄細胞は、継代数36における皮下移植で象牙質様形成物と硬組織様形成物がH-E染色像より観察された。In vitro の分化誘導で継代数64の乳歯歯髄細胞は、硬組織形成の指標であるアリザリンレッド染色による陽性像が観察された。これらの結果から、アカゲザルの乳歯や永久歯、および埋伏歯には歯髄幹細胞が存在するが示唆された。さらに乳歯歯列期のニホンザルにおいては、下顎乳切歯と下顎乳犬歯、および下顎第一乳臼歯の初代培養および継代培養を行っている。

B-24 協力課題における自己認知の実験的分析

草山太一(帝京大・文・心理) 所内対応者：脇田真清

動物に鏡を提示し、その自己の反射像を自己と認知できることは自己鏡像認知と呼ばれている。現在までに多くの動物種を対象に検討されているが、そのほとんどにおいて自己鏡像を自己の反射物と認識することは難しいといわれている。本研究では集団生活をしているコモンマーマセットを対象に自己鏡像認知の成立要因に関する実験的分析を試みた。

昨年度の予備観察から、マーマセットが鏡像に対して、実際のケージメイト、非ケージメイトとは異なる反応をすることが認められたため、2個体をペアとして同一のケージで飼育されている8個体(4ペア)を対象に、「ケージメイト」・「非ケージメイト」・「鏡」の3刺激を用いた選好観察をおこなった。刺激の提示位置も統制して、「ケージメイトと非ケージメイト」、「ケージメイトと鏡」、「非ケージメイトと鏡」の2刺激を対とした3刺激条件で、個体がどちらの刺激の前により長く滞在するか計測した。その結果、非ケージメイトや鏡よりもケージメイトの近くにより長く滞在する傾向が認められた。また、非ケージメイトと鏡像では、鏡像に対する選好は認められなかった。このような選好観察を繰り返しおこなったところ、非ケージメイトよりも鏡の前に長く滞在する個体も現れ、鏡に対する馴化が考えられた。

B-25 霊長類の精子形成を支持する分子機序の解明と細胞培養

林煜欽,中島龍介(慶應大・医・生理学) 所内対応者：今井啓雄

本共同利用研究に先立ち、申請者らはマーマセット成体精巣に存在する精子形成細胞を培養するための新規手法「Testicular sphere 形成法」を開発しており、本研究では他の霊長類に対するこの培養法の有効性の検証を試みた。ニホンザルおよびチンパンジーの成体精巣を単一細胞に解離し、マーマセットの場合と同じ培地を用いて培養したところ、アルカリホスファターゼ活性陽性の生殖細胞を含む Testicular sphere を形成することが確認された。また、Testicular sphere の形成は摘出直後の精巣組織だけではなく、凍結保存した精巣細胞ストックを用いることによって培養することが可能であった。こうした Testicular sphere の形成・培養は培地中への増殖因子の添加に依存しており、増殖因子存在下では少なくとも2か月間の維持が可能である一方、非存在下では sphere の形成は認められなかった。また、Testicular sphere は半数体細胞を含んでおらず、本培養条件下では減数分裂が誘導されないことも判明した。

B-26 サル大脳皮質領野特異的遺伝子発現メカニズムの解明

山森哲雄, 大塚正成(基生研・脳生物学), 畑克介, 小松勇介(生研・生理学・霊長技術) 所内対応者：大石高生

我々は成体サル大脳皮質において、前頭前野に多く発現する遺伝子群、視覚野に多く発現する遺伝子群を同定してきた。成熟サルと新生児サルでの発現の違いは、既に幾つか報告しているが(Tochitani, Neurosci. Lett., 337,111-113,2003;Komatsu et. al.,2005;Sasaki et al,2010)、成体マカクザル大脳皮質の異なる領野よりゲノムDNAを抽出し、領野特異的遺伝子のプロモーター領域における遺伝子修飾を調査したところ、前頭前野に多く発現する遺伝子と視覚野に発現する遺伝子間で修飾度合いの差が見られた(未発表)。本研究では、胎児及び新生児前頭前野と視覚野でDNA修飾の比較を試みた。

具体的には、霊長研より提供を受けた新生児マカクザル前頭前野組織(PFC)、及び視覚野組織(V1)よりゲノムを抽出し、我々が同定したマカクザル大脳皮質領野特異的遺伝子6種のプロモーター領域におけるDNA修飾の度合いを比較した。生体サル同様、提供を受けた新生児サルにおいてもPFC特異的遺伝子プロモーターとV1特異的プロモーター間でDNA修飾の差は見られたが、成体サルと新生児サル間では顕著な差は見られなかった。このことは、領野特異的遺伝子プロモーター間のDNA修飾の差は胎児の時期に既に形成されていることを示唆する。

B-27 A comparative study on the folklore, artwork and traditional utilization of non-human primates in Japan and China

Zhang Peng(Sun Yat-sen University),Watanabe Kunio(Kyoto University),Kawai Hironao(National Museum of Ethnology) 所内対応者：半谷吾郎

The monkey culture is an important part for Hindu, Buddhist, Zodiac and Taoist in East Asia countries. This subject aims at deepening the mutual understanding about the cultural history in China and Japan, through a comparative study on the